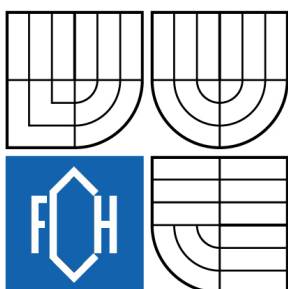




VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ
BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA CHEMICKÁ
ÚSTAV CHEMIE A TECHNOLOGIE OCHRANY
ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ

FACULTY OF CHEMISTRY
INSTITUTE OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY OF
ENVIRONMENTAL PROTECTION

ANALÝZA REZIDUÍ TOXICKÝCH LÁTEK VE VODĚ METODOU "SPRAY & TRAP"

SPRAY & TRAP METHOD FOR ANALYSIS OF RESIDUAL TOXIC AGENTS IN WATER

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE
BACHELOR'S THESIS

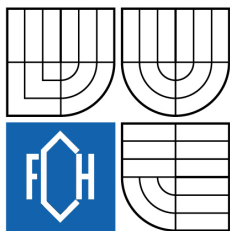
AUTOR PRÁCE
AUTHOR

Ing. LENKA VLČKOVÁ

VEDOUCÍ PRÁCE
SUPERVISOR

ING. JIŘÍ KADLČÁK, CSC. (VTÚO
BRNO)

BRNO 2009



Vysoké učení technické v Brně
Fakulta chemická
Purkyňova 464/118, 61200 Brno 12

Zadání bakalářské práce

Číslo bakalářské práce:	FCH-BAK0331/2008	Akademický rok: 2008/2009
Ústav:	Ústav chemie a technologie ochrany životního prostředí	
Student(ka):	Ing. Lenka Vlčková	
Studijní program:	Ochrana obyvatelstva (B2825)	
Studijní obor:	Krizové řízení a ochrana obyvatelstva (2804R002)	
Vedoucí bakalářské práce:	Ing. Jiří Kadlčák, CSc. (VTÚO Brno)	
Konzultanti bakalářské práce:		

Název bakalářské práce:

Analýza reziduí toxických látek ve vodě metodou "spray & trap"

Zadání bakalářské práce:

Příspěvek k návrhu a ověření metodik analýzy reziduí toxických látek ve vodě metodou "spray and trap" s následným GC/MS analytickým vyhodnocením

Termín odevzdání bakalářské práce: 29.5.2009

Bakalářská práce se odevzdává ve třech exemplářích na sekretariát ústavu a v elektronické formě vedoucímu bakalářské práce. Toto zadání je přílohou bakalářské práce.

Ing. Lenka Vlčková
Student(ka)

Ing. Jiří Kadlčák, CSc. (VTÚO Brno)
Vedoucí práce

doc. Ing. Josef Čáslavský, CSc.
Ředitel ústavu

V Brně, dne 1.12.2008

doc. Ing. Jaromír Havlica, DrSc.
Děkan fakulty

ABSTRAKT

Tato práce se zabývá ověřením možnosti analýzy prekurzorů nebo degradačních produktů toxických sloučenin ve vzduchu a ve vodě prostřednictvím GC/MS metodou termodesorpce nebo kombinací metody "spray & trap" s následným termodesorpčním převedením vzorku do analyzátoru. Pro analýzu byly vybrány toxické sloučeniny triethyl fosfát (dále jen TEP) a diisopropylmethyl fosfonát (dále jen DIMP). Pro vybrané sloučeniny byla optimalizována doba desorpce a to pro TEP 240 sekund a DIMP 210 sekund. Poté byla sestrojena kalibrační křivka pro různé koncentrace sloučenin TEP a DIMP. Na základě těchto měření byla prověřena možnost stanovení koncentrace dané sloučeniny ve vzorku vody metodou "spray & trap". Díky vysoké rozpustnosti sloučenin TEP a DIMP ve vodě, vyšší teplotám varu v porovnání s teplotou varu vody a extrakci při pokojové teplotě, nebylo možné detekovat použitou metodou sloučeniny. Tedy analýza sloučenin TEP a DIMP ve vodě metodou "spray & trap" se jeví jako nevhodná.

ABSTRACT

This work deals with verification of the analysis of precursors or degradation products of toxic compounds in the air and water through GC/MS by method of the thermal desorption or combination of methods "spray & trap" followed by the thermal desorption transfer the sample into the analyzer. Toxic compounds triethyl phosphate (TEP) and diisopropylmethyl phosphonate (DIMP) were chosen for the analysis. For chosen compounds has been optimized desorption time, for TEP 240 seconds and DIMP 210 seconds. Then the calibration curve was made for different concentrations of compounds DIMP and TEP. On the basis of these measurements was tested the possibility of determining the concentration of the compound in water sample using of method "spray & trap". Thanks to the high solubility of compounds TEP and DIMP in water, higher boiling temperatures in comparison with boiling temperature of water, and extraction at room temperature, it was not possible to detect used compounds. Therefore, the analysis of compounds DIMP and TEP in the water by method "spray & trap" seems inappropriate.

KLÍČOVÁ SLOVA

Triethyl fosfát, diisopropylmethyl fosfonát, plynová chromatografie s hmotnostní spektrometrií, GC-MS, metoda „spray & trap“, termodesorpce

KEYWORDS

Triethyl phosphate, diisopropyl methylphosphonate, gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS, method „spray & trap“, the thermal desorption

VLČKOVÁ, L. Analýza reziduí toxických látek ve vodě metodou "spray & trap". Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2009. 34 s. Vedoucí bakalářské práce Ing. Jiří Kadlčák, CSc. (VTÚO Brno).

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem bakalářskou vypracovala samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citovala. Bakalářská práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího diplomové práce a děkana FCH VUT.

.....
podpis studenta

Poděkování:

Za vstřícnost, pomoc a vedení při realizaci této práce děkuji Ing. Jiřímu Kadlčákovi, CSc.

Děkuji Ing. Kamile Vymazalové a Ing. Františku Šmičkovi za cenné rady a vedení v průběhu experimentální práce.

OBSAH

1	ÚVOD	6
2	CÍL PRÁCE.....	7
3	TEORETICKÁ ČÁST.....	8
3.1	CHROMATOGRAFIE, PLYNOVÁ CHROMATOGRAFIE	8
3.2	HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE.....	9
3.2.1	Ionizace molekul	9
3.2.2	Separace iontů	10
3.2.3	Detekce iontů.....	13
3.3	PLYNOVÁ CHROMATOGRAFIE S HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIÍ	13
3.4	ORGANOFOSFOROVÉ SLOUČENINY	14
3.4.1	Rozdělení organofosforových sloučenin.....	14
3.4.2	Chemická charakteristika organofosforových sloučenin	15
4	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	16
4.1	POUŽITÉ PŘÍSTROJE.....	16
4.1.1	Hmotnostní spektrometr.....	16
4.1.2	Periferie IMPACT TM	19
4.1.3	Ovládání přístroje a akvizici a vyhodnocování dat	23
4.2	POUŽITÉ TOXICKÉ SLOUČENINY A CHEMIKÁLIE	24
4.3	VLASTNÍ MĚŘENÍ A VÝSLEDKY	25
4.3.1	Triethyl fosfát (TEP)	25
4.3.2	Diisopropylmethyl fosfonát (DIMP)	28
5	ZÁVĚR.....	30
6	SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ	31
7	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ.....	33
8	SEZNAM PŘÍLOH	34

1 ÚVOD

Bojové chemické látky nebo průmyslové toxické látky mohou být zneužity jednak teroristy, ale připouští se také zneužití jednotlivcem, respektive skupinou, která použije tyto látky k napadení civilního obyvatelstva, eventuálně armády, policie, apod.

Pro ochranu obyvatelstva jsou potřebné studie a vývoj metod pro detekci bojových chemických látek a průmyslových toxických látek a to z důvodů včasného vyhlášení poplachu a varování, prevence expozice, identifikace neznámé látky a následující poskytnutí patřičné první pomoci a terapie, vyhledání zdroje a rozsahu kontaminovaného prostoru, kontroly dekontaminace a provedení rozhodnutí o dalších činnostech.

Vzhledem k nestálosti těchto látek v životním prostředí má větší význam sledování jejich degradačních produktů nebo jejich prekurzorů, které mohou mít spojitost s výrobou bojových chemických látek.

K analýze bojových chemických látek, prekurzorů a degradačních produktů se využívají hlavně instrumentální techniky, z nichž především plynová chromatografie spojená s hmotnostní detekcí je nejčastější a nejuniverzálnější.

Tato studie se zabývá jednou z potenciálních metod pro provádění analýzy vzorků s obsahem prekurzorů a degradačních produktů bojových chemických látek a látek ucelených v seznamech I. a II. „Organizace pro zákaz a kontrolu bojových chemických látek - OPCW“. Vybraná metoda metodou GC/MS v kombinaci s metodou „spray & trap“ (GC/MS P&T) byla realizována na Vojenském technickém ústavu ochrany v Brně [21, 22].

2 CÍL PRÁCE

Hlavním cílem práce bylo ověřit aplikovatelnost metody GC/MS P&T k analýze vzorků s obsahem vybraných sloučenin. Pro praktickou realizaci hlavního cíle bylo řešení rozděleno do následujících kroků:

- 1) Výběr zájmových toxických sloučenin – tento výběr zahrnoval rozbor zájmových chemických sloučenin z hlediska jejich relevantnosti k seznamu OPCW, z hlediska jejich dostupnosti a jejich vlastností;
- 2) Návrh metodiky stanovení vybraných sloučenin - zde byl výběr metody podřízen technickým možnostem pracoviště VTÚO Brno, kde byly vlastní experimentální práce realizovány. Současně byla metoda zvolena tak, aby byla v souladu s dlouhodobým programem pracoviště;
- 3) Provedení vlastních analýz a optimalizace podmínek stanovení - vlastní práce zahrnovaly návrh pracovního postupu, jeho ověření a následnou úpravu s cílem dosažení pozitivních výsledků;
- 4) Rozbor a vyhodnocení výsledků experimentálních prací - představuje závěrečnou část prací, která slouží jednak k průběžné orientaci v průběhu experimentálních prací a jednak ke zhodnocení použitelnosti metody pro předpokládané využití.

3 TEORETICKÁ ČÁST

3.1 CHROMATOGRAFIE, PLYNOVÁ CHROMATOGRAFIE

Chromatografie je separační metoda, při které se oddělují složky obsažené ve vzorku. V chromatografii se vzorek vnáší mezi dvě vzájemně nemísitelné fáze. Stacionární fáze je nepohyblivá, mobilní fáze je pohyblivá. Vzorek umístíme na začátek stacionární fáze. Pohybem mobilní fáze přes stacionární fázi je vzorek touto soustavou unášen. Složky vzorku mohou být stacionární fázi poutány silněji. Tím se postupně složky od sebe separují a na konec stacionární fáze se dostávají dříve složky méně zadržované [1].

Chromatografických metod je velké množství, proto je účelné je rozdělit do určitých skupin:

a) Podle skupenství mobilní fáze:

- Kapalinová chromatografie (Liquid Chromatography – LC) – mobilní fází je kapalina
- Plynová chromatografie (Gas Chromatography – GC) – mobilní fází je plyn

b) Podle uspořádání stacionární fáze:

- Kolonová chromatografie – stacionární fáze je umístěna v trubici (koloně)
- Plošné techniky:
Papírová chromatografie (Paper Chromatography – PC) – stacionární fáze je součástí chromatografického papíru
Tenkovrstvá chromatografie (Thin Layer Chromatography – TLC) – stacionární fáze je umístěna na pevném plochém podkladu

c) Podle povahy děje, který převládá při separaci:

- Rozdělovací chromatografie – o separaci rozhoduje odlišná rozpustnost složek vzorku ve stacionární fázi (kapalina) a mobilní fázi (kapalina nebo plyn)
- Adsorpční chromatografie – o separaci rozhoduje různá schopnost složek poutat se na povrch stacionární fáze
- Ionově – výměnná chromatografie – o separaci rozhodují různě velké elektrostatické síly mezi funkčními skupinami stacionární fáze a ionty vzorku
- Gelová chromatografie – složky se separují podle velikosti na pórovité stacionární fázi, menší molekuly vzorku se v pórech gelu zdržují déle
- Afinitní chromatografie – stacionární fáze je schopna vázat ve vzorku právě určité složky, ke kterým má úzce selektivní vztah

Pro vlastní stanovení analytů (jejich identifikaci a kvantifikaci) se nejčastěji využívá některá z chromatografických technik, přičemž uplatnění v reziduální analýze pesticidů našla plynová chromatografie [1, 17].

V **plynové chromatografii** se vzorek dávkuje do proudu plynu, který jej dále unáší kolonou. Proto se mobilní fáze nazývá nosný plyn. Aby vzorek mohl být transportován, musí se ihned přeměnit na plyn. V koloně se složky separují na základě různé schopnosti poutat se na stacionární fázi. Složky opouštějící kolonu indikuje detektor. Signál z detektoru se vyhodnocuje a z časového průběhu intenzity signálu se určí druh a kvantitativní zastoupení složek [1].

3.2 HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE

Hmotnostní spektrometrie (Mass spectrometry – MS) je fyzikálně chemická metoda určování hmotností atomů, molekul a jejich částí po jejich převedení na kladné nebo záporné ionty. Tato separační technika převádí vzorek na ionizovanou plynnou fázi a vzniklé ionty separuje podle hodnoty podílu jejich hmotnosti a náboje m/z .

Základními kroky v této technice jsou:

- odpaření vzorku,
- ionizace,
- akcelerace iontů do hmotnostního analyzátoru,
- separace iontů hmotnostním filtrem,
- detekce iontů.

Běžný hmotnostní spektrometr obsahuje vstup vzorku, iontový zdroj, hmotnostní analyzátor a detektor [1, 2].

3.2.1 Ionizace molekul

Veškeré informace poskytované hmotnostním spektrometrem se týkají pouze částic nesoucí náboj, ionizace analyzované látky je naprosto nezbytným předpokladem analýzy. Energetická náročnost ionizace závisí na typu analyzované látky, pro většinu organických látek se pohybuje prahová ionizační energie v rozmezí 7 – 16 eV. Energetické děje nad touto prahovou energií vedou k převedení látky do ionizovaného stavu.

Podle množství dodané energie je obvyklé dělit ionizační techniky:

a) Ionizace nárazem elektronů (elektron impact ionization, EI)

Ionizace nárazem elektronů je základním způsobem ionizace molekul. Elektrony pro ionizaci se získávají z rozžhaveného kovového vlákna, nízký tlak v ionizační komůrce přispívá ke snížení srážek iontů s neutrálními molekulami.

S rostoucí energií elektronů nejprve molekula je schopna elektrony zachytit za vzniku záporného iontu, při větší energii dochází k fragmentaci molekuly. Při energiích elektronů nad cca 30 eV je již fragmentační obraz ustálený a ionizační účinnost elektronů málo závislá na jejich energii. Při větší energii elektronů ionizační účinnost klesá. Volba energie elektronů 70 eV pro ionizaci je konvenčně uznávaným optimem.

b) Chemická ionizace (chemical ionization, CI)

Při chemické ionizaci dochází k ionizaci molekuly reakcí s ionty reakčního plynu, které se připraví v iontovém zdroji při zvýšeném tlaku reakčního plynu nárazem elektronů.

c) Ionizace elektrickým polem (field ionization, FI)

Ionizace elektrickým polem je příkladem ionizace z plynné fáze, kdy k vytržení elektronu z ionizované molekuly dojde k působením nehomogenního elektrického pole vytvořeného mezi ostrým hrotem pracovní elektrody a výstupní štěrbinou iontového zdroje.

d) Desorpce elektrickým polem (field desorption, FD)

Ionizace probíhá účinkem silného elektrického pole a probíhá z pevné fáze. Vzorek se resorbuje v ionizované formě přímo z povrchu jedné z elektrod. Je tak umožněna analýza netěkavých, termolabilních látek [2, 3].

e) Desorpce laserem (laser desorption, LD)

Vzorek je bombardován fotony z laseru, který je umístěn vně iontového zdroje. Fotony procházejí do iontového zdroje ke vzorku opticky propustným okénkem. Metoda umožňuje analyzovat netěkavé, polární látky.

f) Desorpce plazmou (plasma desorption, PD)

K ionizaci je možno využít spontánně urychlené produkty rozpadu vhodného radioaktivního izotopu (nejčastěji štěpné produkty izotopu ^{252}Cf). Metoda nachází uplatnění při analýzách teplotně nestálých makromolekulárních látek.

d) Desorpce bombardováním rychlými atomy a ionty (fast atom bombardement, FAB, secondary ion mass spectrometry, SIMS)

K ionizaci je možno využít i urychlené atomy nebo ionty s vyšší hmotností. Techniku ionizace ostřelováním vzorku rychlými atomy, využívající k ionizaci urychlené atomy vzácných plynů, nejčastěji argonu a nebo xenonu, se řadí ionizační techniky z kondenzované fáze. Obdobně lze charakterizovat i příbuznou techniku ionizace rychlými ionty, pracující nejčastěji s urychlenými Cs^+ ionty. Obě ionizační metody jsou využívány při analýzách teplotně nestálých netěkavých látek [2, 3].

3.2.2 Separace iontů

K disperzi nebo filtraci iontů produkovaných v iontovém zdroji podle poměru ku náboji, m/z , popřípadě podle kinetické energie slouží analyzátoři:

a) Magnetický hmotnostní analyzátor

Magnetický hmotnostní analyzátor umožňuje prostorové rozdělení monoenergetického svazku iontů podle hodnoty m/z . Konstrukčně se jedná o elektromagnet mezi jehož pólovými nástavci mohou procházet ionty (viz obr. 1). Ty po urychlení v iontovém zdroji mají kinetickou energii:

$$E_K = mv^2/2 = zV, \text{ kde}$$

m – hmotnost iontu

v – rychlost iontu

z – náboj iontu

V – akcelerační napětí iontového zdroje

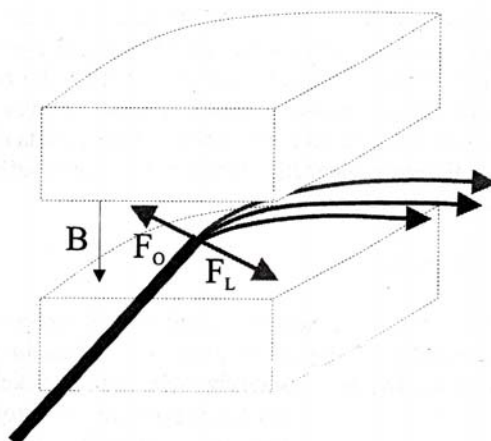
V homogenním magnetickém poli na ně začne působit radiální Lorenzova síla $F_L = Bzv$ (B – magnetická indukce), která je v rovnováze se silou odstředivou $F_O = mv^2/r$ (r – poloměr dráhy iontu). Bude platit:

$$Bzv = mv^2/r$$

Řešením rovnic získáme tzv. rovnici hmotnostního spektrometru ve tvaru:

$$m/z = B^2 r^2 / 2V.$$

Ionty rozdílné m/z budou opisovat dráhy o různých poloměrech. Dojde k prostorové disperzi iontů podle jejich hmotnosti [2].

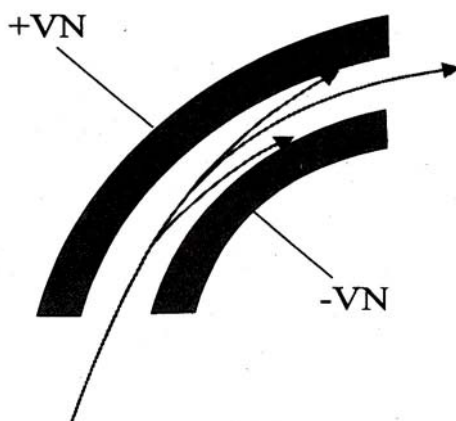


Obrázek 1: Magnetický hmotnostní analyzátor [2]

b) Elektrický analyzátor

Elektrický analyzátor umožňuje energeticky sjednotit proud iontů vystupujících z iontového zdroje nezávisle na hodnotách m/z . Díky rozdílné energii molekul před ionizací nemají ionty po urychlení iontovou optikou přesně stejnou kinetickou energii.

Elektrický analyzátor je tvořen dvojicí sférických deskových elektrod, které jsou připojeny ke zdroji vysokého napětí. Dráha iontu, který se dostane do homogenního elektrického pole elektrického analyzátoru, je tímto polem zakřivována. Poloměr dráhy iontu bude dán jeho kinetickou energií a intenzitou elektrického pole mezi oběma deskovými elektrodami. Pro danou geometrii elektrického sektoru vymezující možnou trajektorii a zvolenou intenzitu pole projdou tímto zařízením pouze ionty o určité kinetické energii. Ionty s energií odlišnou se zachytí na jedné z obou elektrod [2].



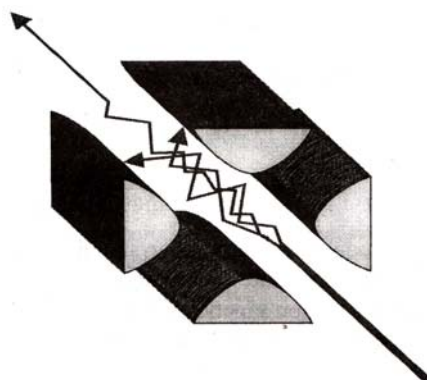
Obrázek 2: Elektrický analyzátor [2]

c) Kvadrupólový analyzátor

Kvadrupólový analyzátor je založen na využití kombinace stejnosměrného a radiofrekvenčního elektrického pole, která vytváří hmotnostní filtr pro ionty, vstupující do tohoto kombinovaného pole.

Konstrukčně se jedná o čtyři kovové tyče kruhového nebo hyperbolického průřezu (obr. 3), které jsou připojené ke zdrojům stejnosměrného a vysokofrekvenčního střídavého napětí. Ionty, které vlétnou do prostoru mezi tyčemi, se dostanou do střídavého elektrického pole a

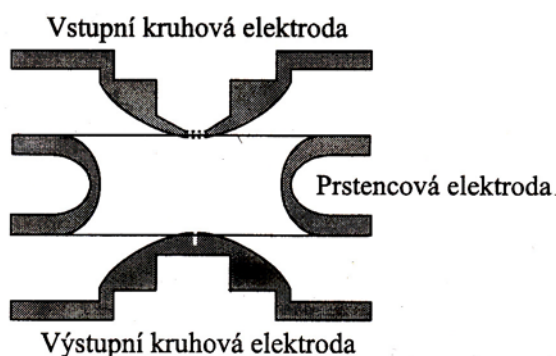
začnou oscilovat. Při vhodně zvoleném poměru stejnosměrné a střídavé složky napětí a dané hodnotě těchto napětí projdou kvadrupólem pouze ionty o určitém m/z , ostatní se dostanou na nestabilní trajektorie a zachytí se na tyčích kvadrupólu nebo na stěnách přístroje. Zařízení se chová jako hmotnostní filtr nastavený na určitou hmotnost m/z iontu. Změnou napětí vkládaných na kvadrupól je možno nechat tímto filtrem postupně projít ionty v celém intervalu hodnot m/z [2, 3].



Obrázek 3: Kvadrupólový analyzátor [2]

d) Iontová past

Iontová past je zařízení umožňující s pomocí elektrického pole uzavřít ionty v ohraničeném prostoru. Iontová past se sestává ze vstupní a výstupní elektrody kruhového průřezu a prstencové středové elektrody. Obě krajní elektrody jsou uzemněny, na středovou elektrodu je přivedeno vysokofrekvenční napětí s proměnnou amplitudou. Ionty, které se dostanou do vnitřního prostoru iontové pasti, jsou nuceny se pohybovat po uzavřených kruhových drahách. S rostoucí amplitudou vkládaného napětí se postupně ionty s rostoucím m/z dostávají na nestabilní trajektorie a opouštějí vnitřní prostor iontové pasti směrem do detektoru.



Obrázek 4: Průřez iontovou pastí [2]

e) Průletový analyzátor

Princip činnosti hmotnostního spektrometru podle doby letu spočívá v měření, který potřebuje ion k prolétnutí vzdálenosti mezi iontovým zdrojem a detektorem. Ionty s odlišným m/z , vystupující z iontového zdroje, mají při stejné kinetické energii rozdílnou rychlost. Hmotnější ion se pohybuje nižší rychlostí a dorazí do detektoru později. Je zřejmé, že časové difference a tedy i dosažitelné rozlišení budou záviset na délce dráhy, kterou ionty v trubici průletového analyzátoru urazí [2].

f) Iontová cyklotronová rezonance (s Fourierovou transformací)

Principem iontové cyklotronové rezonance je jev, že se ionty mohou pohybovat v magnetickém poli po uzavřených kruhových drahách, při frekvencích odpovídajících jejich m/z . Podáme – li energii těmto iontům při frekvenci odpovídající jejich precesní frekvenci ve směru kolmém k rovině precese, ionty absorbují tuto energii. Tato energie v závislosti na hodnotách m/z poskytuje spektra nedestruktivním způsobem. Dodává – li se energie současně impulsem v pásu kol v pásu frekvencí, lze analyzovat odezvu s použitím Fourierovy transformace. Metoda je vhodná pro studium reakcí plyných látek.

h) Radiofrekvenční analyzátory

Tyto analyzátory jsou založeny na vytvoření hmotnostního filtru vložení radiofrekvenčního napětí na řadu mřížek. Stupnice hmotností se zhušťuje se čtvercem frekvence tohoto napětí a rozlišovací schopnost tedy s rostoucí hodnotou m/z rychle klesá. Analyzátory tohoto typu jsou vhodné pro analýzu lehkých a atmosférických plynů [3].

3.2.3 Detekce iontů

Iontové detektory převádějí proud dopadajících iontů na proud elektronů.

a) Faradayova klec

Kritériem vhodnosti detektoru iontů je citlivost, přesnost a doba odezvy. V tomto zařízení dopadají pozitivní ionty na kolektor, kde se neutralizují elektrony, které přicházejí přes vysoko-ohmový odpor z uzemnění za vzniku napěťového pulzu. Velikost tohoto pulzu, který je zesílen a registrován, je úměrná počtu iontů a počtu nábojů na ion, dopadlý na kolektor. Nezávisí na energii, hmotnosti a chemických vlastnostech iontu. Faradayova klec je vhodným detektorem pro přesná měření relativně silných iontových proudů, jejichž velikost se mění pomalu.

b) Detekce iontů elektronovým násobičem

Principem zesílení iontového proudu v elektronovém násobiči je vyžití sekundární emise elektronů. Proud iontů z hmotnostního separátoru je fokusován na první, konverzní, dynodu, která emituje elektrony v množství, přímo úměrném počtu dopadajících iontů. Sekundární elektrony z konverzní dynody jsou urychleny a fokusovány na druhou dynodu, kde po dopadu emitují další sekundární elektrony. Tento proces se opakuje na dalších dynodách (kaskádový jev) [3].

3.3 PLYNOVÁ CHROMATOGRAFIE S HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIÍ (Gas chromatography-mass spectrometry, GC/MS)

Spojení plynové chromatografie a hmotnostní spektrometrie vytvořilo efektivní techniku pro analýzu složitých směsí organických látek. Hmotnostní spektra dostatečně těkavých látek mohou být získána způsobem, kdy vzorek po rozdělení na koloně vchází přímo nebo přes omezovač případně separátor do iontového zdroje. Při přímém způsobu je konec kolony zaveden do stěny iontového zdroje a jednotlivé komponenty směsi jsou po východu z kolony okamžitě detekovány a analyzovány. Tento způsob, který představuje tzv. bezezráťový přenos, je možný především při použití kapilárních kolon, kdy množství látky vcházející do hmotnostního spektrometru je dostatečně malé a systém turbomolekulárních vývěv je schopen udržet dostatečně nízké tlaky pro analýzu (alespoň 10^{-5} Torr). Při použití náplňových kolon,

kdy je průtoková rychlost a množství vycházející látky daleko větší, je většinou nutné použít omezovač, který propustí jen určité množství a zajistí tak zachování vhodných tlakových podmínek pro měření. Při použití separační membrány je umožněno organickým látkám přednostně pronikat do hmotnostního spektrometru. Velká část molekul nosného plynu (kyslíku, dusíku) membránou neprojde. Zvýšení koncentrace, dosahované ve spektrometru, závisí na schopnosti sloučeniny pronikat touto membránou. Schopnost sloučeniny pronikat membránou zase závisí na její povaze, teplotě vstupní membrány a tlaku nosného plynu. [3, 4, 20].

3.4 ORGANOFOFOROVÉ SLOUČENINY

Organofosforové sloučeniny patří k jedné z nejdůležitějších skupin pesticidů, které nahradily chlorované uhlovodíky. S těmito organofosforovými pesticidy se můžeme setkat v zemědělství, kde se využívají jako insekticidy.

Podobnou strukturu mají také nervově paralytické látky, působící na lidský organismus především svoji mimořádnou toxicitou, rychlým nástupem účinku, snadnou použitelností a vlivem na nervovou soustavu. Díky těmto vlastnostem jsou organofosforové sloučeniny zneužívány používají pro vojenské účely jako bojové chemické látky [6, 8].

3.4.1 Rozdělení organofosforových sloučenin

Organofosforové sloučeniny jsou organické estery kyseliny fosforečné.

Nervově paralytické účinky jsou charakteristické pro deriváty kyseliny fosfonové (RPO_3H_2), ale také některé fosfáty (deriváty kyseliny fosforečné) a některé karbamáty. Fosfonáty a fosfáty s těmito vlastnostmi se často označují nepřesně jako organofosfáty. Nejznámější organofosfáty, které patří mezi nejvýznamnější a nejnebezpečnější skupinou bojových chemických látek, mají strukturu derivátů kyseliny fosforové. Nervově paralytické látky jsou obsaženy v chemických arzenálech prakticky všech známých a také předpokládaných držitelů chemických zbraní. Vyznačují se rychlým účinkem, vysokou letalitou i velmi nízkými dávkami způsobujícími zneschopnění aniž by byl zasažený dříve varován smyslovými vjemy (zejména zápachem).

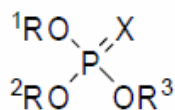
Další skupinou jsou degradační produkty organofosfátů. Někdy bývá detekce a identifikace původních organofosfátů obtížná nebo nemožná. Ve vodě nebo v půdě podléhají organofosfáty degradaci a hydrolýze, takže pouze degradační produkty jsou přítomny ve vzorcích původně kontaminovaných organofosfáty typu bojových chemických látek.

Možné organofosforové sloučeniny jsou i prekurzory bojových chemických látek, což jsou sloučeniny, ze kterých lze bojové chemické látky připravit.

Pesticidy jsou odvozeny převážně od kyseliny fosforečné. Nevýhodou organofosfátů je jejich vysoká akutní toxicita pro člověka a vyšší živočichy, předností je jejich chemická labilita, takže zemědělské produkty jsou požitelné již za krátkou dobu po ošetření a kumulace není možná [7,12, 13, 14].

3.4.2 Chemická charakteristika organofosforových sloučenin

Jednu z největších skupin organofosforových sloučenin, pro kterou je charakteristický výrazný biologický účinek, lze znázornit obecným vzorcem:



${}^1\text{R}$, ${}^2\text{R}$, R^3 = alkoxy, alkyl, substituovaná aminokyselina
 $\text{X} = \text{O}, \text{S}$

Obrázek 5: Obecný vzorec organofosforových sloučenin

Fosfor má na valenční sféře uspořádání $3s^2 3p^3$. Kromě toho má volné 3d orbitály, proto může velmi lehko přejít do stavu $3s 3p^3 3d$, a takto vytvořit pět vazebných orbitalů. Fosfor tvoří pevnější vazby s elektronegativnějšími prvky (O, Cl), ostatní vazby jsou stejné.

Organofosforové sloučeniny jsou dosti reaktivní povahy. Hlavní chemická reakce, při které vznikají degradační produkty, je hydrolýza. Hydrolýza je současně nejjednodušším způsobem odmoření.

Mezi další reakce organofosforových sloučenin patří například fosforylace, oxidace, redukce [11, 15, 16].

4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

4.1 POUŽITÉ PŘÍSTROJE

EM 640 je mobilní a přenosný GC/MS systém identifikaci a kvantitativní vyhodnocení organických látek ve vzduchu, vodě, půdě a na površích.

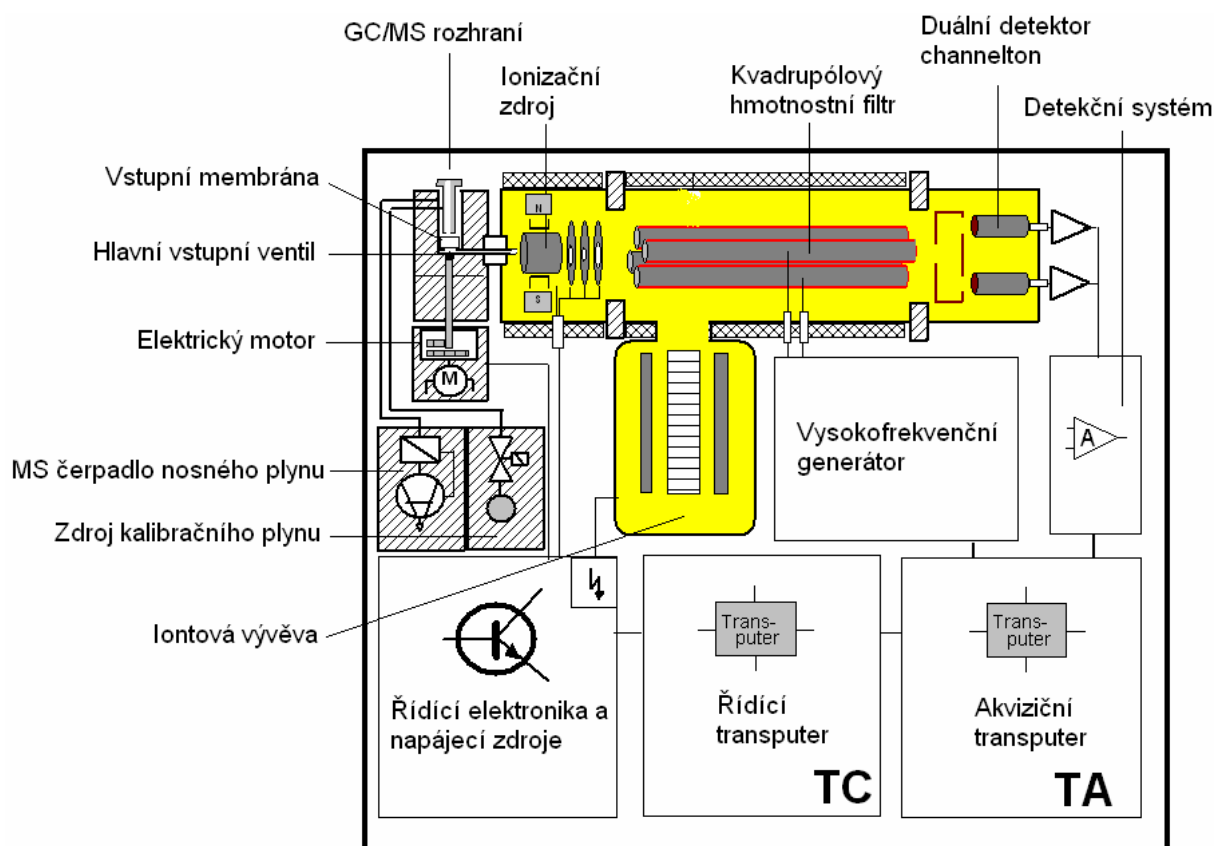
Součástí mobilního GC/MS systému EM 640 je:

4.1.1 Hmotnostní spektrometr

Hmotnostní spektrometr je základní součástí systému EM 640. Slouží ke hmotnostní spektrometrické analýze látek, vstupujících z primárního periferního modulu.

Na obr. 6 jsou zobrazeny hlavní součásti hmotnostního spektrometru, a to:

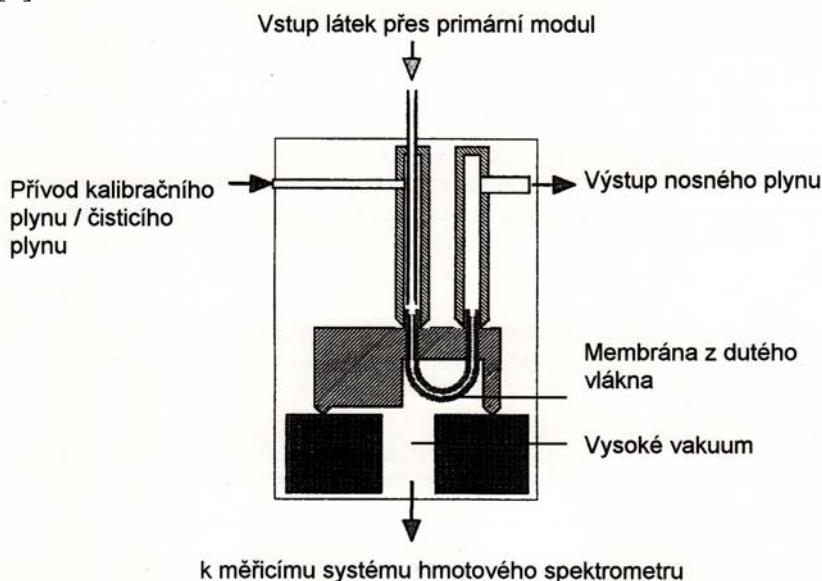
- Vstup látky - nosný plyn se sloučeninami proudí z primárního periferního modulu do hmotnostního spektrometru
- Vstupní systém - když je hlavní ventil otevřený, látky difundují přes vstupní membránu a pak přes hlavní ventil do hmotového spektrometru
- Ionizační zdroj - molekuly jsou ionizovány srážkami s elektrony
- Analyzátor - vzniklé molekulární a fragmentové ionty jsou separovány kvadrupólovým hmotnostním filtrem podle svého poměru hmotnosti k náboji
- Detekční systém - počet iontů procházejících kvadrupólovým hmotnostním filtrem je měřen jedním ze dvou detektorů channeltron
- Akviziční transputer TA - měřená data jsou zaznamenávána, konvertována a přenášena do jiných transputerů za účelem dalšího zpracování [4].



Obrázek 6: Součásti hmotnostního spektrometru EM 640 [4]

Membránový vstupní systém

EM 640 pracuje s membránovým vstupním systémem, který je tvořen perforovanou trubičkou, pokrytou křemíkem. Tato membrána je vložena do hliníkového pouzdra, nalézajícího se přímo před hlavním ventilem. Pouzdro s membránou lze vyměňovat. Během činnosti přístroje je tato membrána vyhřívána (v teplotním rozsahu 50 - 250 °C) a umožňuje organickým látkám přednostně pronikat do hmotnostního spektrometru. Velká část molekul nosného plynu (kyslíku, dusíku) membránou neprojde. Zvýšení koncentrace, dosahované ve spektrometru, závisí na schopnosti sloučeniny pronikat touto membránou. Schopnost sloučeniny pronikat membránou zase závisí na její povaze, teplotě vstupní membrány a tlaku nosného plynu [4].



Obrázek 7: Membránový vstupní systém [2]

Součásti měřicího systému hmotnostního spektrometru

Aby mohl hmotnostní spektrometr fungovat, potřebuje k tomu vysoké vakuum. Tyto podmínky jsou vytvářeny a udržovány ve vakuovém systému. Vakuová komora, součást vakuového systému, ukrývá měřicí systém, skládající se z ionizačního zdroje EI, kvadrupólového hmotnostního filtru a detektorů channeltron. Vakuový systém je vyčerpáván iontovou vývěvou s čerpací rychlostí 20 l/s. Vysokofrekvenční generátor vytváří střídavé a stejnosměrné napětí, požadované pro práci kvadrupólového hmotového filtru.

Vakuový systém

Pro měření je zapotřebí vakuum alespoň 1 mPa. Toto vakuum je vytvářeno a udržováno vakuovým systémem, který se skládá ze tří hlavních součástí: vakuové komory, hlavního ventilu se vstupní membránou a iontové vývěvy. Tlak ve vakuovém systému se zjišťuje z výbojového proudu iontové vývěvy. Tento proud je úměrný tlaku v systému.

a) Vakuová komora

Vakuum se vytváří v této komoře, která obsahuje měřicí systém hmotnostního spektrometru. Tato komora je tvořena zvláštní kovovou nádobou. Mezi ní a přírubami se nalézají speciální hliníková těsnění. Komora, která má vysoký stupeň těsnosti, je během zapnutí přístroje nepřetržitě vyčerpávána iontovou vývěvou. Při práci je vakuová komora vyhřívána [4].

b) Iontová vývěva

Má čerpací výkon 20l/s a při práci nevyžaduje předčerpávací vývěvu. Ihned po zapnutí hmotového spektrometru začne vývěva čerpat.

c) Hlavní ventil

Hlavní ventil se nalézá hned za vstupní membránou. Když je uzavřený, odděluje vstupní membránu od vysokovakuové komory. Jedná se o mechanický ventil, který se otevírá a uzavírá pomocí elektrického motoru.

Ionizační zdroj EI

Hmotnostní spektrometr má ionizační zdroj EI, vybavený dvěma katodami. Když probíhá měření, používá se pouze jedna katoda a druhá slouží jako rezerva. Ionizační zdroj je vybaven vícestupňovým systémem elektrických čoček. Tento systém urychluje ionty z ionizačního zdroje a soustřeďuje iontový paprsek na vstup kvadrupólového hmotového filtru.

Kvadrupólový hmotnostní filtr

Hmotnostní analyzátor je kvadrupól, vyrobený z jednoho kusu skla, na jehož vnitřní straně jsou čtyři velmi přesné hyperbolické plochy, pokryté samostatnými kovovými fóliemi. Protější plochy jsou vzájemně elektricky propojeny. K separaci iontů dochází díky tomu, že ionty jsou elektrickými poli uvnitř kvadrupólového hmotnostního filtru uváděny do oscilací. Vysokofrekvenční generátor produkuje vysokofrekvenční střídavé a stejnosměrné napětí, potřebné k vytváření těchto polí.

Duální detektor channeltron

Počet iontů, procházejících kvadrupólovým hmotnostním filtrem, je zaznamenáván jedním ze dvou detektorů channeltron. Citlivější detektor funguje v režimu počítání iontů a slouží k detekci menších iontových proudů v rozmezí od 1 až 2×10^7 iontů/s. Druhý pracuje v analogovém režimu a slouží k detekci větších iontových proudů do 5×10^9 iontů.

Oba detektory jsou při měření zapnuté. Iontový paprsek, opouštějící kvadrupólový hmotnostní filtr, je nejdříve přepnut na číací detektor iontů. Když překročí zadanou maximální hodnotu, automaticky se přepne na druhý detektor, pracující v analogovém režimu. Přepínání iontového paprsku je vykonáváno velmi rychlým systémem elektrických čoček a řízeno akvizičním transputerem TA.

Vysokofrekvenční generátor

Vysokofrekvenční generátor produkuje vysokofrekvenční střídavé napětí a stejnosměrné napětí sloužící k vytváření oscilujících elektrických polí uvnitř kvadrupólového hmotnostního filtru, která dovolují iontům se zvoleným poměrem hmotnost/náboj procházet kvadrupólem.

Zdroj nosného plynu

V závislosti na přesné konfiguraci přístroje může EM 640 pracovat s různými nosnými plyny a nosné plyny mohou být směřovány na vstupní membránu různými způsoby [4].

Zdroj kalibračního plynu

EM 640 využívá ke kalibraci stupnice a rozlišení hmotností perfluorotributylamin (PFTBA).

4.1.2 Periferie IMPACT™

Periferie IMPACT™ se skládá z řady modulů pro vzorkování, vstup vzorků, separaci směsí látek a přívod do hmotnostního spektrometru. Dále je k dispozici zdrojový modul nosného plynu a elektronický modul.

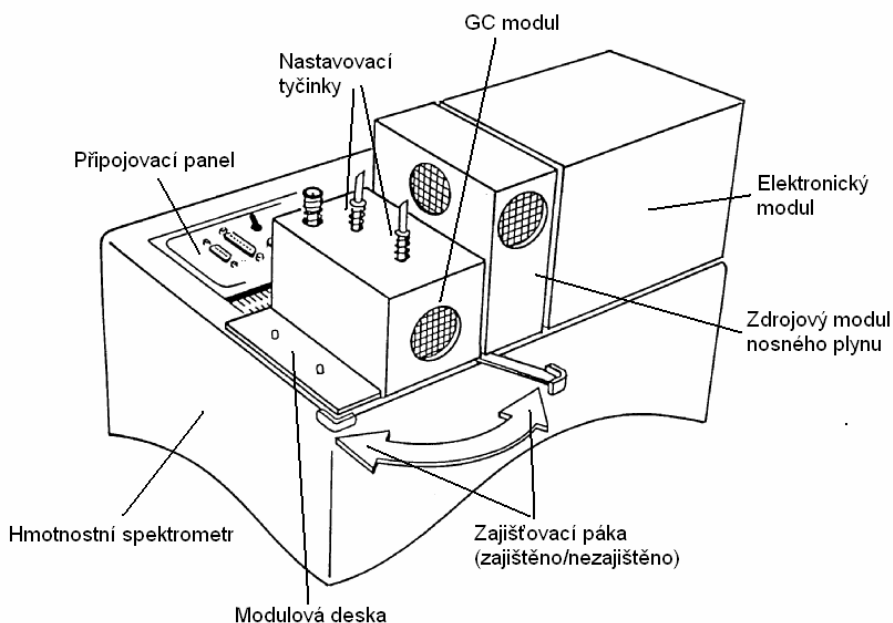
Koncepce IMPACT™ rozlišuje moduly s různými funkcemi:

- primární moduly,
- sekundární moduly,
- terciární moduly.

4.1.2.1 Primární moduly

Primární moduly přivádějí látky, které mají být analyzovány, do hmotnostního spektrometru, tyto látky jsou dopravovány proudem nosného plynu ke vstupní membráně.

Pro měření byl použit **GC modul**. GC modul slouží pro plynově chromatografickou separaci směsí látek a následné přivádění těchto látek do hmotnostního spektrometru. Nemá žádný systém pro nástřik látek a musí být spojen se sekundárním modulem. Tento modul vstříkují analyzované látky do GC kolony a přivádí nosný plyn. Spojení je realizováno konektorem modul/GC. Dvě nastavovací tyčky na GC modulu zajišťují, že moduly jsou vzájemně správně nastaveny. GC modul lze vybavit různými typy GC kolon.



Obrázek 8: GC modul namontovaný na hmotnostním spektrometru [4]

Součásti GC modulu jsou:

a) GC kolona

Používané GC kolony jsou chemicky vázané křemenné kapilární kolony. GC kolona je navinuta kolem tvarovacího válce a je vyhřívatelná.

b) Tvarovací válec GC kolony

GC kolona je navinuta kolem umělohmotného válce. Tento tvarovací válec je stejný pro všechny GC moduly a spolu s průměrem kolony určuje maximální použitelnou délku GC kolony. Válec s GC kolonou je nasunut na hliníkový válec, tvořený dvěma pláště.

c) Vyhřívací systém

Hliníkový válec je vyhříván prostřednictvím drátů navinutých kolem vnější plochy pláště. Přímý kontakt mezi hliníkovým válcem a tvarovacím válcem zajišťuje vynikající tepelné spojení s GC kolonou. To zase umožňuje používat velmi rychlé teplotní programy.

d) Chladicí systém

Po skončení práce s GC/MS je horká GC kolona automaticky ochlazována ventilátorem. Typická doba ochlazování je mezi jednou až čtyřmi minutami. Ventilátor pracuje tak dlouho, jak dlouho je vyžadováno chlazení pro zachování nízké výchozí teploty.

e) Konektor modul/GC

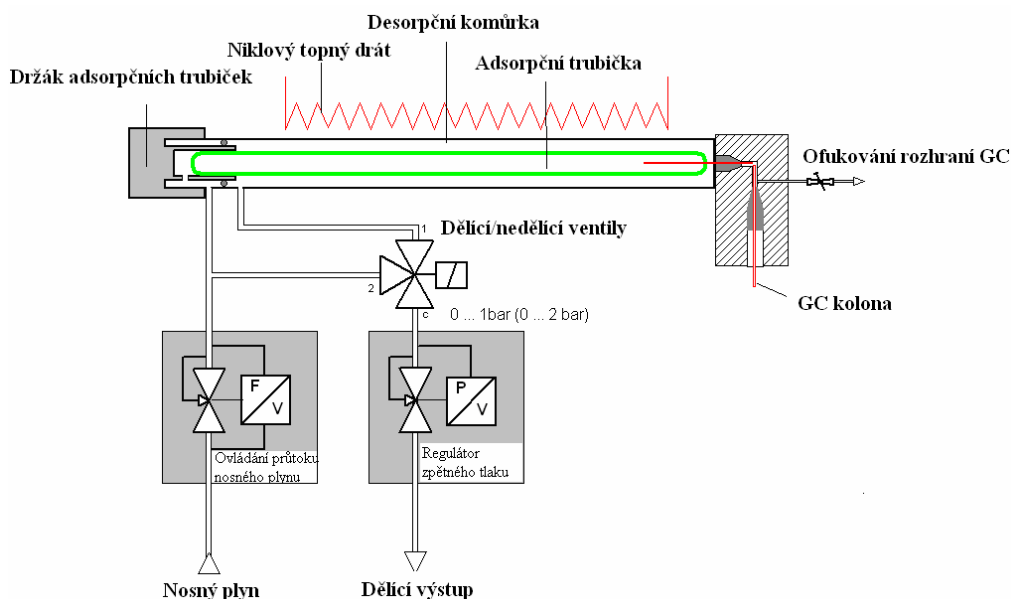
Konektor modul/GC slouží k připojení sekundárního modulu ke GC modulu. Během činnosti je tento konektor vyhříván [4].

4.1.2.2 Sekundární moduly

Sekundární moduly jsou speciální systémy pro vstup a nástřik vzorků sloužící k zavádění vzorků různých typů do GC modulu, a tím i do hmotnostního spektrometru. Analyzovaný vzorek se zavádí do sekundárního modulu a nástřikuje do GC kolony GC modulu.

Pro měření byl použit sekundární **desorpční modul**. Desorpční modul slouží k tepelné desorpci látek adsorbovaných na adsorpční trubičce a k nástřiku desorbovaných látek na začátek GC kolony v GC modulu. Adsorpční trubičky se plní externě přes terciární moduly, a pak se zasouvají do desorpční komůrky.

Hlavní součásti desorpčního modulu jsou znázorněny na obr. 9:



Obrázek 9: Desorpční modul

a) Desorpční port, desorpční komůrka

Vyjímatelný držák adsorpčních trubiček, do kterého se trubičky vkládají koncem bez adsorbentu, se nalézá v desorpčním portu na přední straně modulu. Držák adsorpčních trubiček je k desorpčnímu modulu připevněn pomocí bajonetového uzávěru.

Po zahájení měření se desorpční komůrka ohřeje niklovým topným drátem (rychlost ohřevu $> 400^{\circ}\text{C}/\text{min}$), navinutým kolem ní, na naprogramovanou desorpční teplotu (max. 300°C) a na této úrovni je udržována po naprogramované dobu. Maximální povolená desorpční teplota závisí na adsorbentu.

Po uplynutí naprogramované desorpční doby projde adsorpční trubičkou nosný plyn, který nastříkne desorbované látky na začátek chladné GC kolony.

Po uplynutí naprogramované nástřikové doby je nástřik ukončen drastickým zvýšením dělicího poměru a spustí se čištění adsorpční trubičky.

Po uplynutí naprogramované čistící doby se desorpční komůrka ochladí ventilátorem ve zdrojovém modulu nosného plynu na 60°C .

b) Přívod a průtok nosného plynu

Nosný plyn je přiváděn přes přípojku nosného plynu (Carrier Gas) na zadní straně modulu. Průtok nosného plynu desorpčním modulem je řízen ovládáním průtoku nosného plynu, regulátorem zpětného tlaku a přepínáním dělicího/nedělicího ventilu. Ovládání průtoku udržuje konstantní a programovatelný průtok nosného plynu desorpční komůrkou. Když tlak v komůrce překročí naprogramovanou hodnotu, otevře se regulační ventil zpětného tlaku a nadbytečný plyn odejde z modulu přes dělicí výstup.

c) Dělicí systém

Hlavními součástmi dělicího systému jsou dělicí/nedělicí ventily a dělicí výstup na zadní straně modulu. Když začne desorpce, odpovídajícím sepnutím dělicího/nedělicího ventilu se nastaví nedělicí fáze, při níž všechen nosný plyn, protékající adsorpční trubičkou, prochází GC kolonou.

d) Ofukování rozhraní GC

Rozhraní GC konektoru modul/GC je ofukováno částí nosného plynu, který pak opouští modul přes dělicí výstup, když je dělicí/nedělicí ventil otevřený.

e) Hardwarové spouštěcí tlačítko

Podobně jako kombinovaný nástřikový a desorpční modul má i desorpční modul na svislé přední ploše hardwarové spouštěcí tlačítko.

4.1.2.3 Terciární moduly

Terciární moduly jsou moduly pro odebírání, případně přípravu vzorků.

Pro měření byl použit terciální modul **vzorkovač vody WS 100** (obr. 10). Vzorkovač vody WS 100 slouží k extrakci těkavých organických látek z vodných vzorků. Funguje na principu **rozprašování a zachycování (spray and trap)**. Voda se mění na aerosol, kterým je profukován proud plynu. Tímto způsobem těkavé organické látky přecházejí z vodní fáze do extrakčního plynu. Kvůli zachycení extrahovaných látek prochází extrakční plyn adsorpční trubičkou naplněnou adsorbentem [4].

WS 100 lze používat odděleně jako samostatná jednotka. Musí ale k němu být připojena řídicí a napájecí jednotka, zdrojová jednotka extrakčního plynu a držák absorpční trubičky.

WS 100 se skládá z těchto součástí:

a) Rozprašovací extrakční komůrka

Extrakce těkavých organických látek probíhá ve skleněné rozprašovací extrakční komůrce. Ke komůrce, která obsahuje čidlo výšky vodní hladiny, je připojena rozprašovací tryska a vstup a výstup extrakčního plynu. Ve dnu komůrky se nalézá výstup vody.

b) Rozprašovací systém

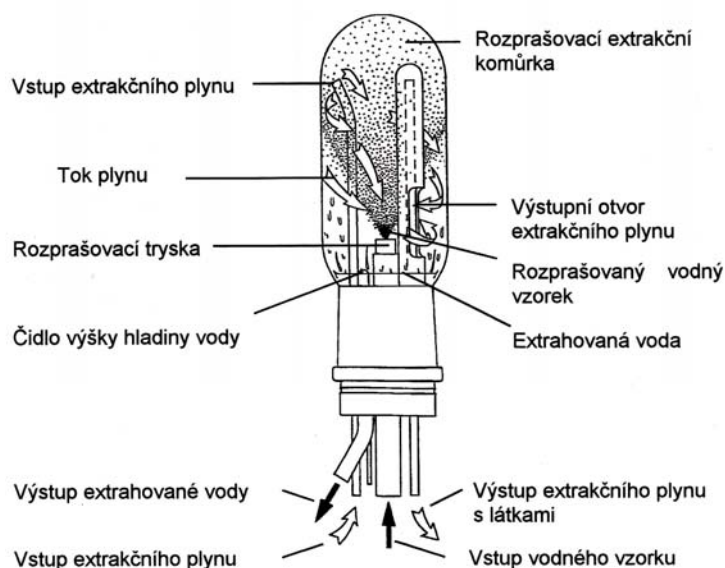
Tento systém sestává ze zvláštní ocelové kónické rozprašovací trysky se zabudovaným rotátorem a zubového čerpadla. Vodný vzorek se do WS 100 nasaje (z nádoby, jezera, řeky, atd.) čerpadlem přes přípojku pro vstup vody. Pak je protlačen přes trysku a rozprášen zespodu do rozprašovací extrakční komůrky. Maximální rychlost průtoku závisí na typu použitého čerpadla (100 až 200 ml/min).

c) Přívod a výstup extrakčního plynu

Jako extrakční plyn se používá vzduch filtrovaný přes aktivní uhlí. Když je WS 100 spojen s automatickým vzorkovačem vzduchu, vzduch je do WS 100 nasáván vzorkovacím čerpadlem zdrojového modulu nosného plynu přes filtr s aktivním uhlím. Při samostatné činnosti je filtrovaný vzduch generován zdrojovou jednotkou extrakčního plynu a přiváděn do WS 100.

Extrakční plyn vstupuje do WS 100 přes přípojku pro vstup plynu. Je vstříkován přes kovovou trubičku s maximální rychlostí průtoku 200 ml/min do horní části rozprašovací extrakční komůrky a proudí směrem dolů přes proud aerosolu k výstupnímu otvoru plynu. Po uplynutí naprogramované rozprašovací doby se rozprašování zastaví, ale proudění extrakčního plynu se ještě jednu minutu zachovává kvůli absorpci organických látek, které jsou stále ještě v plynné fázi.

Extrakční plyn odchází výstupem plynu na zadní straně WS 100 a protéká adsorpční trubičkou [4].



Obrázek 10: Rozprašovací extrakční komůrka

4.1.3 Ovládání přístroje a akvizici a vyhodnocování dat

Systém k těmto účelům využívá softwarové balíky BRUKER - m.a.c.s. LabStar a Bruker DataAnalysis:

a) BRUKER - m.a.c.s. LabStar

Řídicí a datový program BRUKER - m.a.c.s. LabStar řídí provádění měření, akvizice dat a ukládání hardwarem EM 640.

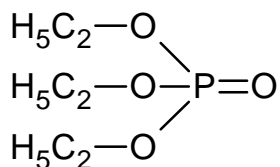
b) Bruker DataAnalysis

Bruker DataAnalysis je softwarový nástroj pro zpracování a vyhodnocování dat GC/MS, LC/MS a MS. Obsahuje rutiny pro separaci téměř úplně se překrývajících GC peaků a generaci čistých hmotnostních spekter. K identifikaci naměřených hmotnostních spekter využívá hierarchicky uspořádaných knihoven hmotnostních spekter a dokáže určovat koncentrace látek. Obsahuje vyhledávací rutinu pro hledání předem definovaných látek a je-li nainstalována databáze nebezpečných látek, vyhodnocuje identifikované látky [4].

4.2 POUŽITÉ TOXICKÉ SLOUČENINY A CHEMIKÁLIE

V experimentální práci byla použita destilovaná voda a následující toxické sloučeniny:

a) Triethyl fosfát (TEP)



Obrázek 11: Vzorec triethyl fosfátu

CAS No.: 78-40-0

Sumární vzorec: $(\text{C}_2\text{H}_5\text{O})_3\text{PO}$

Další název: TEP

$M_r = 182,16$

$\rho = 1,072 \text{ g/cm}^3$

Forma: tekutina

Barva: bezbarvý

Zápach: jemný

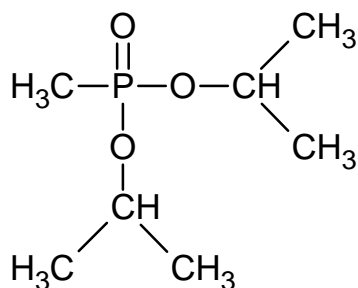
Rozpustnost: ve většině organických rozpouštědlech

Teplota varu: 215°C

Triethyl fosfát je polární, ve vodě rozpustná sloučenina, pomalu hydrolyzuje. Dráždí oči, dýchací orgány a pokožku. Je zdraví škodlivá při požití, může se absorbovat přes pokožku, má narkotické účinky. Je prekurzorem pro výrobu tetraethylpyro fosfátu (TEPP), hexaethyl tetrafosfátu (HEPT) [15, 24].

Používá se při výrobě plastů jako zpomalovač hoření, změkčovadlo, při výrobě insekticidů a jako meziprodukt při výrobě léčiv [19].

b) Diisopropylmethyl fosfonát (DIMP)



Obrázek 12: Vzorec diisopropylmethyl fosfonátu

CAS No.: 1445-75-6

Sumární vzorec: $\text{C}_7\text{H}_{14}\text{O}_3\text{P}$

Další název: DIMP

$M_r = 180,2$

$\rho = 0,976 \text{ g/cm}^3$

Forma: tekutina

Barva: bezbarvý

Rozpustnost ve vodě = 1-2 g/l (25 °C)

Rozpustnost v jiných organických rozpouštědlech: -

Teplota varu: 121,1 °C

Diisopropylmethyl fosfonát je bezbarvá kapalina. Je prekurzorem při výrobě sarinu. Je zdraví škodlivý. DIMP ve vysokých koncentracích působí na centrální nervový systém [18, 23].

4.3 VLASTNÍ MĚŘENÍ A VÝSLEDKY

Metoda je určena ke zpracování a přípravě vzorků vody kontaminovaných sloučeninami:

- triethyl fosfát (TEP) nebo
- diisopropylmethyl fosfonát (DIMP).

Pomocí vzorkovače vody „WS 100“, pro analýzu přímou termodesorpcí pomocí GC/MS EM 640.

Pro měření na přístroji GC/MS EM 640 byly nastaveny následující parametry:

a) Teplotní program

40 °C (1 min, gradient 10 °C/min) – 280 °C (10 min)

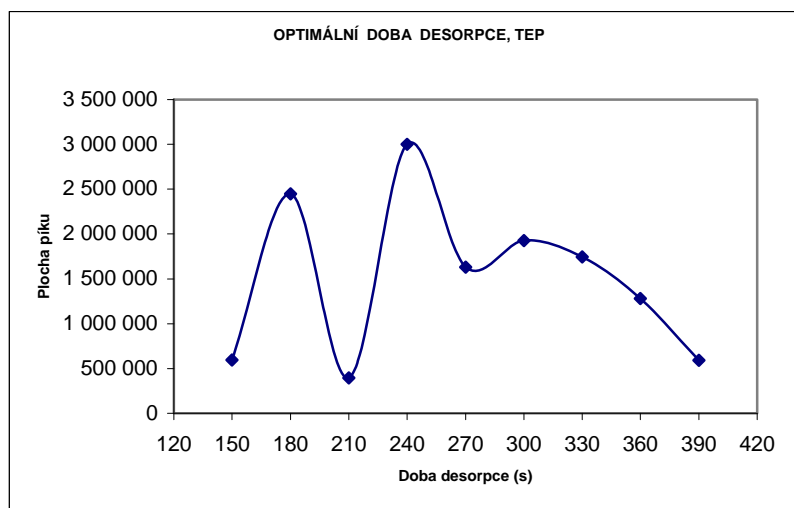
b) Ostatní parametry

- chromatografická kolona - HP-5MS 25 m x 0,32 mm x 1,0 µm,
- nosný plyn dusík, průtok 30 ml.min⁻¹,
- teplota desorpce 280 °C.

4.3.1 Triethyl fosfát (TEP)

4.3.1.1 Optimalizace doby desorpce, TEP

Do Tedlarového vaku o objemu vzduchu 25 l bylo nadávkováno 100 µl TEP. Vývod z Tedlarového vaku byl spojen s adsorpční trubičkou a průtokoměrem. Na průtokoměru byl nastaven průtok 0,28 l/min po dobu 5 minut. Poté byla adsorpční trubička desorbována pomocí desorpčního modulu. Po nastavení desorpčního času 120, 150, 180, 210, 240, 270, 300, 330, 360 a 390 sekund byla hledána optimální doba desorpce.



Graf 1: Optimalizace doby desorpce, TEP

Z grafu 1 byla určena optimální doba desorpce 240 s.

4.3.1.2 Sestrojení kalibrační křivky, TEP

Programem systému GC/MS EM 640 Bruker byla sestrojena kalibrační křivka pro sloučeninu TEP.

Parametry pro sestrojení kalibrační křivky:

- doba desorpce 240 s
- doba průtoku směsi vzduchu s 100 µl TEP jsou 3, 6, 9, 12, 15 minut.

4.3.1.3 Optimalizace doby stripování vzorku vody kontaminovaného TEP pro vzorkovač vody

Do skleněné láhve o objemu 1 litr byl nadávkován 1 litr destilované vody. Tato voda byla následně pomocí mikrodávkovací kontaminována 100 µl TEP.

Do láhve přes upravené víko byla spuštěna nasávací hadice se sacím košem a odpadní hadice. Na vzorkovači byly nastaveny následující parametry:

- hodnota na regulátoru „Flow 10x“ byla nastavena na hodnotu 1,
- průtok adsorpční trubičkou byl 280 ml/l,
- ventil Carrier gas – zcela otevřen,
- hodnoty stripovacího cyklu jsou uvedeny v tab. 1.

Po nastavení všech uvedených parametrů byla napojena na vývod „GAS OUT“ adjustovaná tenaxovou adsorpční trubičku a spuštěna pomocí tlačítka „START“ proces stripování.

Tabulka 1: Hodnoty stripovacího cyklu

Číslo sekvence	Funkce	Čas [sekunda]
1.	doba čekání	10
2.	doba zaplnění systému	10
3.	doba rozprašování a adsorpce	300
4.	doba ukončení jímání plynu	60
5.	doba vyprázdnění komůrky	10
6.	doba pauzy	10

Po ukončení procesu stripování byla odpojována adsorpční trubička a předána k analýze na GC/MS EM 640.

Výsledky analýzy na GC/MS EM 640 po 1, 2 a 3 cyklech stripování byly nulové, sloučenina TEP nebyla detekována. Proto byla kontaminace vody zvýšena na koncentraci 1 ml a 5 ml TEP. I přes zvýšenou koncentraci TEP ve vodě se nepodařilo vytěsnit analyzovanou sloučeninu z vodného roztoku a sloučenina nebyla detekována.

Chromatogram získaný v průběhu měření je uveden v příloze této zprávy, stejně jako kalibrační křivka pro termodesorpční GC/MS analýzu TEP.

4.3.1.4 Zpracování a příprava vzorků obsahující páry TEP pro přímou desorpci na EM 640

Vzhledem k tomu, že analýza sloučeniny TEP metodou "spray & trap" je nevhodná, navržená metoda pro zpracování a přípravu vzorků obsahující páry TEP je přímá desorpce GC/MS EM 640.

Pracovní postup

Pomocí vzorkovací pumpy projde vzduch přes adsorpční tenaxovou trubičku průtokem $280 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ po dobu 30 minut. Po odebrání vzorku vzduchu je trubička na obou koncích utěsněna krytkami a předána k analýze na GC/MS EM 640.

Nastavení teplotních parametrů GC/MS EM 640

40 °C (1 min, gradient 10 °C/min) – 280 °C (10 min)

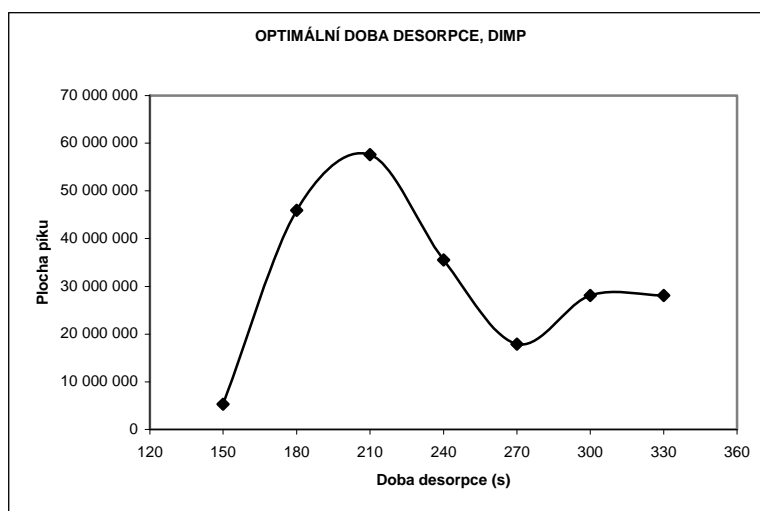
Ostatní parametry

- chromatografická kolona - HP-5MS 25 m x 0,32 mm x 1,0 µm,
- nosný plyn dusík, průtok $30 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$,
- teplota desorpce 280 °C,
- doba desorpce 240 s.

4.3.2 Diisopropylmethyl fosfonát (DIMP)

4.3.2.1 Optimalizace doby desorpce, DIMP

Do Tedlarového vaku o objemu vzduchu 25 l bylo nadávkováno 100 μ l DIMP. Vývod z Tedlarového vaku byl spojen s adsorpční trubičkou a průtokoměrem. Na průtokoměru byl nastaven průtok 0,28 l/min po dobu 5 minut. Poté byla adsorpční trubička desorbována pomocí desorpčního modulu. Po nastavení desorpčního času 150, 180, 210, 240, 270, 300, 330 minut byla hledána optimální doba desorpce.



Graf 2: Optimalizace doby desorpce, DIMP

Z grafu 2 byla určena optimální doba desorpce 210 s.

4.3.2.2 Sestrojení kalibrační křivky, DIMP

Programem systému GC/MS EM 640 Bruker byla sestrojena kalibrační křivka pro sloučeninu DIMP.

Parametry pro sestrojení kalibrační křivky:

- doba desorpce 210 s
- doba průtoku směsi vzduchu s 10 μ l DIMP jsou 3, 6, 9, 12 minut

4.3.2.3 Optimalizace doby stripování vzorku vody kontaminovaného DIMP pro vzorkovač vody

Do skleněné láhve o objemu 1 litr byl nadávkován 1 litr destilované vody. Tato voda byla následně pomocí mikrodávkovací kontaminována 100 μ l DIMP.

Do láhve přes upravené víko byla spuštěna nasávací hadice se sacím košem a odpadní hadice. Na vzorkovači byly nastaveny následující parametry:

- hodnota na regulátoru „Flow 10x“ byla nastavena na hodnotu 1,
- průtok adsorpční trubičkou byl 280 ml/l,
- ventil Carrier gas – zcela otevřen,
- hodnoty stripovacího cyklu jsou uvedeny v tab. 2.

Po nastavení všech uvedených parametrů byla napojena na vývod „GAS OUT“ adjustovaná tenaxovou adsorpční trubičku a spuštěna pomocí tlačítka „START“ proces stripování.

Tabulka 2: Hodnoty stripovacího cyklu

Číslo sekvence	Funkce	Čas [sekunda]
1.	doba čekání	10
2.	doba zaplnění systému	10
3.	doba rozprašování a adsorpce	300
4.	doba ukončení jímání plynu	60
5.	doba vyprázdnění komůrky	10
6.	doba pauzy	10

Po ukončení procesu stripování byla odpojována adsorpční trubičku a předána k analýze GC/MS EM 640.

Výsledky analýzy GC/MS EM 640 po 1, 2 a 3 cyklech stripování byly nulové, sloučenina DIMP nebyla detekována. Proto byla kontaminace vody zvýšena na koncentraci 1 ml a 5ml DIMP. I přes zvýšenou koncentraci DIMP ve vodě nebyla sloučenina detekována.

Pro zvýšení dělení látek extrakcí z kapaliny do kapaliny bylo přidáno 5 ml dichlormethanu do 100 ml destilované vody a 5 µl DIMP. Po 1 a 2 cyklech stripování a následné analýze na GC/MS EM 640 byly výsledky nulové, sloučenina DIMP nebyla detekována.

Chromatogram získaný v průběhu měření je uveden v příloze této zprávy, stejně jako kalibrační křivka pro termodesorpční GC/MS analýzu DIMP.

4.3.2.4 Zpracování a příprava vzorků obsahující páry DIMP pro přímou desorpci na EM 640

Vzhledem k tomu, že analýza sloučeniny DIMP metodou "spray & trap" je nevhodná, navrhnutá metoda pro zpracování a přípravu vzorků obsahující páry DIMP je přímá desorpce na EM 640.

Pracovní postup

Pomocí vzorkovací pumpy je prosát vzduch přes adsorpční tenaxovou trubičku průtokem 280 ml.min⁻¹ po dobu 30 minut. Po odebrání vzorku vzduchu trubičku na obou koncích je utěsněna krytkami a předána k analýze na GC/MS EM 640.

Nastavení teplotních parametrů GC/MS EM 640

40 °C (1 min, gradient 10 °C/min) – 280 °C (10 min)

Ostatní parametry

- chromatografická kolona - HP-5MS 25 m x 0,32 mm x 1,0 µm,
- nosný plyn dusík, průtok 30 ml.min⁻¹,
- teplota desorpce 280 °C,
- doba desorpce 210 s.

5 ZÁVĚR

V první části bakalářské práce jsem se zabývala literární rešerší pojednávající komplexně o analytických metodách chromatografii a hmotnostní spektrometrii, dále pak o organofosforových sloučenin a jejich popisu.

V experimentální práci je popsán přístroj **GC/MS s vzorkovačem vody WS 100**, na kterém bylo realizováno měření.

Hlavním cílem práce bylo ověřit aplikovatelnost metody GC/MC P&T k analýze vzorků s obsahem vybraných sloučenin. Pro analýzu byly vybrány toxické sloučeniny:

- **triethyl fosfát** (dále jen **TEP**) a
- **diisopropylmethyl fosfonát** (dále jen **DIMP**),

které jsou využívány jako prekurzory (TEP) bojových chemických látek nebo jsou degradačními produkty (DIMP) těchto látek a jsou relevantní seznamu II. OPCW.

V první fázi experimentálních prací byla ověřena možnost použití **termodesorpční metody** pro zavedení vzorku do GC/MS analytického systému a stanovení optimálních podmínek termodesorpce. Při měření byla sledována závislost mezi dobou desorpce a velikostí plochy píku stanovované sloučeniny. Měřením byla stanovena optimální doba desorpce:

- pro sloučeninu **TEP 240 sekund** a
- pro sloučeninu **DIMP 210 sekund**.

Při této optimální době desorpce a různé koncentrace dané sloučeniny byla sestrojena kalibrační křivka. Z kalibrační křivky lze pak vypočítat neznámou koncentraci sloučeniny TEP a DIMP.

V další části experimentální práce jsem se zabývala hledáním optimální doby stripování vzorku vody kontaminovaného sloučeninou TEP následně sloučeninou DIMP pro vzorkovač vody.

Výsledky analýzy GC/MS EM 640 po 1, 2 a 3 cyklech stripování byly nulové, sloučenina TEP nebyla detekována. Proto byla kontaminace vody zvýšena na koncentraci 1 ml a 5 ml TEP. I přes zvýšenou koncentraci TEP ve vodě nebyla sloučenina detekována. Ke stejnému závěru se došlo i v případě stripování a analýzou GC/MS EM 640 u sloučeniny DIMP.

Z výsledků studie vyplývá zjištění, že extrakční účinnost pro jednotlivé látky závisí na rozpustnosti těchto látek, jejich těkavosti a době extrakce. Díky vysoké rozpustnosti sloučenin TEP a DIMP ve vodě, vyšší teplotám varu v porovnání s teplotou varu vody a extrakci při pokojové teplotě, nebylo možné detekovat použitou metodou dané sloučeniny. Tedy analýza sloučenin TEP a DIMP ve vodě metodou "spray & trap" se jeví jako nevhodná.

Proto bylo navrženo zpracování a příprava vzorků obsahující páry TEP a DIMP **přímou desorpčí GC/MS EM 640** při již známých optimálních dobách desorpce a daných teplotních a ostatních parametrů na GC/MS EM 640.

Za praktický přínos práce lze považovat fakt, že byla prakticky ověřena možnost přímé analýzy sloučenin TEP a DIMP metodou GC/MS-P&T a i přes negativní výsledek vlastního stanovení byl vypracován obecný metodický postup pro ověření aplikovatelnosti metody na další zájmové sloučeniny. Pro spolehlivé analytické řešení analýzy TEP a DIMP bude nutné navrhnout a experimentálně ověřit jinou metodu, která umožní spolehlivou izolaci analátu z vodného roztoku a jeho úpravu pro analytickou koncovku.

6 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] Klouda, P.: *Moderní analytické metody*. 2. vyd. Ostrava: Pavel Klouda, 2003. 132 s. ISBN: 80-86369-07-2.
- [2] Němcová, I.: *Spektrometrické analytické metody II*. 1. vyd. Praha: Karolinum, 1998. 162 s. ISBN 80-7184-586-8.
- [3] Vřešťál, J.: *Hmotnostní spektrometrie*. vyd. Brno: ,1998.
- [4] Uživatelský manuál pro Mobilní GC/MS Systém EM 640, Bruker Daltonik GmbH, 1999
- [5] Bajgar, J.: *Vojenská toxikologie*. 1. vyd. Hradec Králové: VLA JEP, 1991.
- [6] Musílek, K.: Testování schopnosti známých oximu (pralidoxim, trimedoxim, hi-6, Methoxim, obidoxim) reaktivovat chlorpyrifosem inhibovanou Acetylcholinesterázu in vitro. *Vojenské zdravotnické listy*, 2005, roč. 74, č. 5-6, s. 184-185.
- [7] Horák, J.: *Úvod do toxikologie a ekologie pro chemiky*. 1. vyd. Praha: Vydavatelství VŠCHT Praha, 2004. 189 s. ISBN: 80-7080-548-X. Dostupné z: http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_isbn-80-7080-548-X/pages-img/obalka-1.html
- [8] Vopršalová, M.: *Základy toxikologie pro farmaceuty*. 1. vyd. Praha: Karolinum, 2000.
- [9] Patočka, J.: *Vojenská toxikologie*. 1. vyd. Praha: Grada Publishing, a.s., 2004. 178 s. ISBN: 80-247-0608-3.
- [10] Středa, L.: *Chemické látky Seznamu 2 a 3 podle Úmluvy o zákazu chemických zbraní*. 1. vyd. Praha: MV–generální ředitelství Hasičského záchranného sboru ČR, 2006. 215 s. ISBN: 80-86640-52-3.
- [11] Hrnčiar, P.: *Organická chémia*. 1. vyd. Bratislava: Vydavatelství UK, 1997. 712 s. ISBN: 80-223-1161-8.
- [12] Lüllmann, H.: *Farmakologie a toxikologie*. 2. vyd. Praha: Grada Publishing, a.s., 2004. 725 s. ISBN: 80-247-0836-1.
- [13] Matoušek, J., Linhart, P.: *CBRN Chemické zbraně*. 1. vyd. Ostrava: Sdružení požárního a bezpečnostního inženýrství v Ostravě, 2005. 151 s. ISBN: 80-86634-71-X
- [14] The ministry for foreign affairs of Finland: *Identification of degradation products of potencial organophosphorus warfare agents*. 1. vyd. Helsinky: University of Helsinky, 1980. 203 s. ISBN: 951-46-4875-7.
- [15] Matoušek, J., Tomeček, I.: *Analýza bojových otravných látek*. 1. vyd. Praha: Státní pedagogické nakladatelství, 1961. 235 s.
- [16] Bajgar, J.: *Intoxikace organofosforovými inhibitory cholinesteráz: účinek, diagnóza a terapie*. 1. vyd. Praha: Avicenum, 1985. 80 s. 08-071-85.
- [17] Hajšlová, J., Alterová, K., Křivánková, J., Godula, M.: Aplikace chromatografických metod ve stopové analýze pesticidů. In *Analýza organických látek: Sborník přednášek z kurzu, Český Těšín 1999*. ISBN: 80-902432-9-0.
- [18] U.S. department of health and human services: *Diisopropyl methylphosphonate*. Public Health Service Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Dostupné z: <http://www.atsdr.cdc.gov/tfacts119.pdf>
- [19] OECD SIDS: Triethylphosphate CAS N°: 78-40-0. Dostupné z: <http://www.inchem.org/documents/sids/sids/78400.pdf>
- [20] Churáček, J.: *Analytická separace látek*. 1.vyd. Praha: SNTL, 1990. 384 s. 04-626-90.
- [21] Nývltová, Z., Parýzková, J., Čermák, J., Churáček, J.: Analýza organofosforečných otravných látek (ol), jejich prekurzorů a degradačních produktů. *Chem. listy* [online]. 1999, červen [cit. 30. červen 1999]. Dostupné z: http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/1999_03_181-190.pdf

- [22] Mika, O.: Chemický terorismus a nepřátelské použití chemických látek. *Mezinárodní konference medicíny katastrof* [online]. 2002, červen [cit. 24. červen 2002].
Dostupné z:
http://www.egozlin.cz/upload.cs/5/50d82244_0_mika_isatech_brno_2002_a.pdf
- [23] Ellison, D. H.: *Chemical and Biological Warfare Agents*. 2. vyd. U.S.A.: Taylor and Francis Group, 2008. 762 s. ISBN: 3-8493-1434-8.
- [24] Matolcsy, G., Nádasy, M., Andrýska, V.: *Pesticide Chemistry*. 1. vyd. Amsterdam,,: Elsevier Science Publisher, 1988. 808 s. ISBN: 963 050 4573 X

7 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

m	hmotnost
z	náboj
LC	kapalinová chromatografie
GC	plynová chromatografie
PC	papírová chromatografie
TLC	tenkovrstvá chromatografie
MS	hmotnostní chromatografie
eV	elektron volt
CI	chemická ionizace
FI	ionizace elektrickým polem
FD	desorpce elektrickým polem
LD	desorpce laserem
PD	desorpce plasmou
m	hmotnost iontu
v	rychlost iontu
z	náboj iontu
V	akcelerační napětí iontového zdroje
F_L	Lorenzova síla
B	magnetická indukce
r	poloměr dráhy iontu
F_O	odstředivá síla
GC-MS	plynová chromatografie s hmotnostní spektrometrií
TA	akviziční transputer
TC	řídící transputer
PFTBA	perfluorotributylamin
DDVP	dichlorphos
CAS No.	registrační číslo pro chemickou látku
TEP	triethyl fosfát
DIMP	diisopropylmethyl fosfonát
IMPACT	Integrated Modular Portable Accessories ConcepT = koncepce integrovaného modulárního přenosového příslušenství
TEPP	tetraethylpyro fosfát
HEPT	hexaethyl tetrafosfát
OPCW	The Organisation for the Prohibition of Chemical Weapons = Organizace pro zákaz a kontrolu bojových chemických látek

8 SEZNAM PŘÍLOH

Příloha 1: Chromatogram, TEP

Příloha 2: Chromatogram, DIMP

Příloha 3: Kalibrační křivka, TEP

Příloha 4: Kalibrační křivka, DIMP

PŘÍLOHY

Příloha 1: Chromatogram, TEP

Chromatogram Report

Analysis Info:

File: C:\DSYS\ANL\80328201\2965.MSF

Printed: Mon, 18.5.2009, 8:47:33

Date acquired: Wed, 13.5.2009, 10:38:52

Instrument: EM 640 Desorber/CA

Operator : EMUser

Task : Default Task

Batch : Default Batch

Method : Manual Split/-less Desorption (EM)

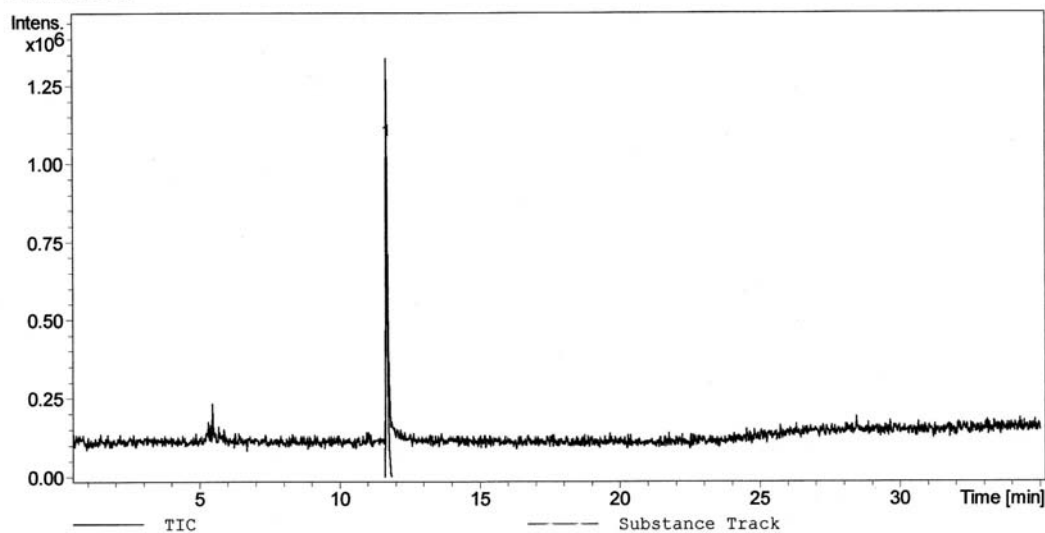
Sample : 13052009-TEP-9min/3

Sample Info:

Sample Name

13052009-TEP-9min/3

Chromatogram:



Peak List:

Procedure :

Date evaluated: Mon, 18.5.2009, 8:46:20

No.	Time [min]	Area [cnts]	Substance	CAS No.	Peak Time	Concentr.	Conc. Units
1	11.68	4887700	Triethyl phosphate Diphosphoric acid, tetraethyl ester	78-40-0 107-49-3	11:50:33	0.0	

End of report

Příloha 2: Chromatogram, DIMP

Chromatogram Report

Analysis Info:

File: C:\DSYS\ANL\80328201\2941.MSF

Printed: Mon, 18.5.2009, 13:07:31

Date acquired: Mon, 11.5.2009, 11:24:24

Instrument: EM 640 Desorber/CA

Operator : EMUser

Task : Default Task

Batch : Default Batch

Method : Manual Split/-less Desorption (EM)

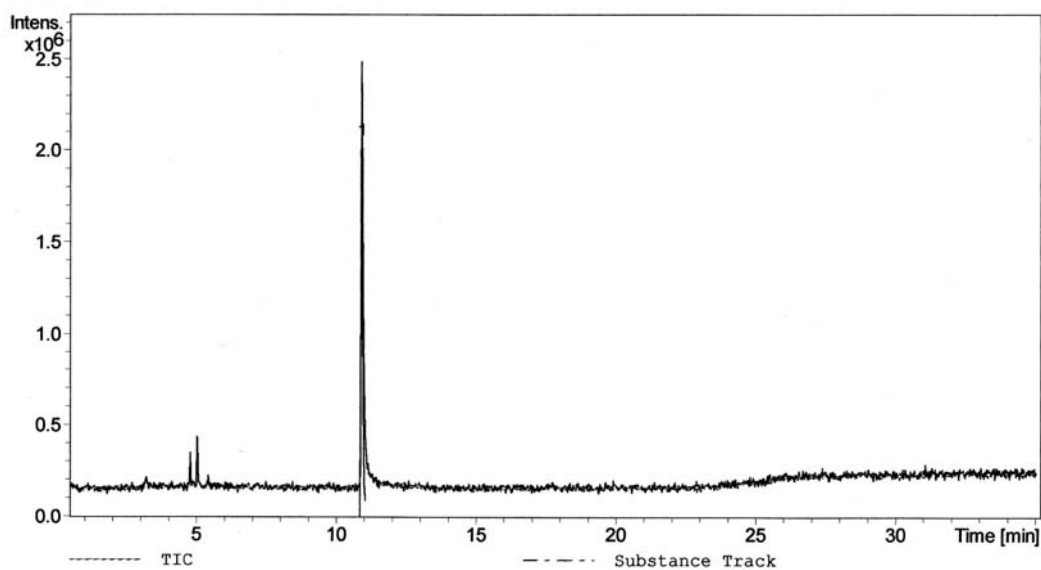
Sample : 11052009-DIMP-9min/1

Sample Info:

Sample Name

11052009-DIMP-9min/1

Chromatogram:



Peak List:

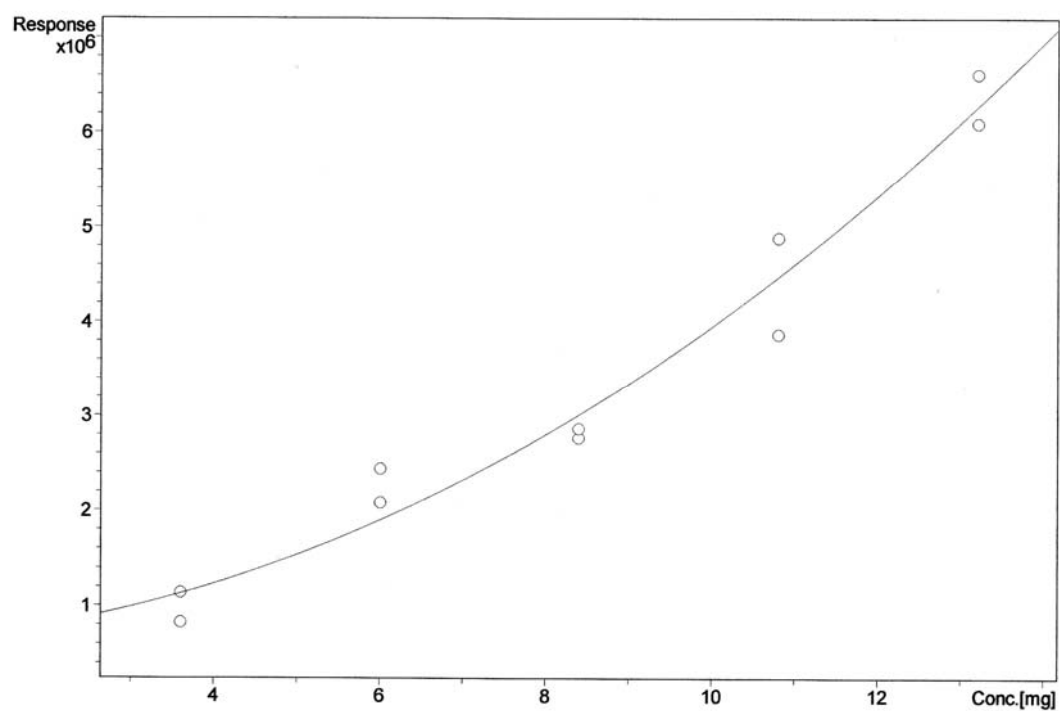
Procedure : C:\DSYS\DA\MET\DIMP.MPR

Date evaluated: Tue, 12.5.2009, 17:00:16

No.	Time [min]	Area [cnts]	Targ.Mass [u]	Peak Name	Intensity
1	10.90	9558800		DIMP	2061504.4

End of report

Příloha 3: Kalibrační křivka, TEP



Příloha 4: Kalibrační křivka, DIMP

